

# Формальдегідний кондуктометричний біосенсор на основі рекомбінантної формальдегіддегідрогенази дріжджів *Hansenula polymorpha*

О. Ф. Сосовська, Г. М. Павлішко<sup>1</sup>, С. Я. Парижак<sup>1</sup>, М. В. Гончар<sup>1</sup>, Я. І. Корпан

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

<sup>1</sup>Інститут біології клітини НАН України  
Вул. Драгоманова, 14/16, Львів, 79005, Україна

yakorpan@yahoo.com

---

*Для розробки кондуктометричного біосенсора, чутливого до формальдегіду, використано золоті гребінчасті планарні електроди та  $NAD^+$ - і глутатіон-залежну формальдегіддегідрогеназу, виділену з клітин рекомбінантного штаму Tf 11-6 термотолерантних дріжджів *H. polymorpha*, здатних до надпродукування цього ферменту. Запропоновано новий підхід до створення біоелемента сенсора, який включає іммобілізацію у біоселективному шарі низькомолекулярних кофакторів ( $NAD^+$  та глутатіону) і дозволяє проводити багаторазовий аналіз без їхнього внесення в зразок. Крім того, зникає необхідність у регенерації  $NAD^+$  за рахунок його високої локальної концентрації в мембрані. Досліджено залежність величини сигналу біосенсора від концентрації аналіту, величини рН та концентрації буфера. Вивчено також операційну стабільність, стабільність при зберіганні та селективність створеного біосенсора. Лінійний динамічний діапазон визначення концентрації формальдегіду становить 1–100 мМ.*

*Ключові слова: кондуктометричний біосенсор, *Hansenula polymorpha*,  $NAD^+$ - і глутатіон-залежна формальдегіддегідрогеназа, формальдегід.*

---

**Вступ.** Сьогодні як ніколи гостро постає потреба постійного моніторингу стану навколишнього середовища, якості продуктів харчування та діагностики захворювань. Разом з тим виникає проблема розробки нових перспективних методів аналізу ксенобіотиків, токсичних компонентів продуктів харчування та ключових елементів метаболізму [1].

Серед речовин-забруднювачів, які мало вивчені та привертають увагу дослідників, чи не провідне місце займає формальдегід [2]. Його широко використовують для синтезу різноманітних смол, у де-

ревообробній промисловості, при виробництві миючих засобів, масел, нафтопродуктів, у косметичній та текстильній промисловості. В медицині формальдегід застосовують як дезінфектор для знищення патогенних мікроорганізмів, а також при створенні медичного обладнання [3]. Виробництво формальдегіду становить 10 млн тон на рік [4].

Для визначення формальдегіду у рутинній практиці використовують колориметричні методи, відомі з початку ХХ століття, однак більшість із них не є селективними, а реагенти та продукти реакції часто не менш шкідливі для навколишнього середовища та здоров'я людини, ніж сам формальдегід. Дослідження за допомогою деяких спек-

тральних методів, а також високоефективної рідинної хроматографії, газової хроматографії, флуориметрії потребують використання токсичних реагентів для дериватизації формальдегіду, їх можна проводити лише в спеціалізованих лабораторіях, оснащених дорогим обладнанням та за наявності висококваліфікованого персоналу [5]. Окрім цього, зазначені методи непридатні для експрес-аналізу, оскільки для дериватизації аналіту, інсталяції апаратури та проведення аналізу потрібно чимало часу. Саме тому найновіші аналітичні розробки скеровані на створення біосенсорних підходів для визначення вмісту формальдегіду в різноманітних зразках. На сьогодні існують численні лабораторні прототипи біосенсорів для реєстрації формальдегіду у різних середовищах, зокрема, амперометричні [6, 7], потенціометричні [8], кондуктометричні [9, 10], п'єзоелектричні біосенсори на ферментній основі та на основі взаємодій ДНК-білок [11]. Проте жоден з них досі не впроваджено у виробництво через низку недоліків.

У цій роботі пропонується кондуктометричний біосенсор на основі глутатіон-залежної формальдегіддегідрогенази (ФдДГ), виділеної з клітин рекомбінантного штаму Tf 11-6 термотолерантних дріжджів *H. polymorpha*, здатних до надпродукування цього ферменту. На відміну від доступних комерційних препаратів формальдегіддегідрогеназ (бактерійної – з *Pseudomonas putida* і дріжджової – із *Candida boidinii*) виділений нами рекомбінантний фермент має вищу питому активність та є толерантнішим до впливу температури [12].

**Матеріали і методи.** У роботі використано глутатіон-залежну ФдДГ (КФ 1.2.1.1), виділену з клітин рекомбінантного штаму Tf 11-6 термотолерантних дріжджів *H. polymorpha*, здатних до надпродукування цього ферменту [13]. Фермент з питомою активністю 17 од/мг виділяли за методом [12]. Формальдегід отримували гідролізом параформу («Sigma-Aldrich Chemie», Франція); ДЕАЕ-декстран фірми «Fluka Biochemica» (Франція); 5 %-й спиртовий розчин нафіону – «Sigma-Aldrich Chemie»; для іммобілізації ферментів застосовували 50 %-й водний розчин глутарового альдегіду фірми «Serva» (Німеччина); біоселективну мембрану разом з ФдДГ стабілізували,

використовуючи сироватковий альбумін бика (БСА) (фракція V) фірми «Serva». Інші реагенти для приготування буферних розчинів були вітчизняного виробництва кваліфікації «ч. д. а.» та «х. ч.».

В експериментах використовували кондуктометричну установку, описану в роботі [14]. Кондуктометричні перетворювачі виготовлено в Інституті фізики напівпровідників ім. В. Є. Лашкарьова НАН України. Вони складаються з двох ідентичних пар золотих гребінчастих електродів, одержаних вакуумним напиленням золота на основу із ситалу (5

40 мм). Розмір чутливої поверхні кожної електродної пари становив приблизно 1,0–1,5 мм. Відстань між пальцями гребінок та ширина самих пальців гребінок становить 20 мкм [15].

Біоселективні мембрани виготовляли наступним чином. Спочатку готували 0,2 М розчин  $\text{NAD}^+$  у 0,2 М К-фосфатному буферному розчині, рН 7,25, який додатково нейтралізували концентрованим  $\text{NaOH}$  до рН 7,2. Для формування біоселективної мембрани готували суміш, яка містила 20 мкл розчину  $\text{NAD}^+$ , 16 мкл розчину ФдДГ з активністю 90 од./мл, стабілізованого сульфатом амонію, 2 мг БСА, 2 мг ДЕАЕ-декстрану та 4 мкл 0,2 М нейтралізованого розчину глутатіону. Склад вихідного розчину для формування референтної мембрани був таким самим, як і в разі біоселективної мембрани, але замість аліквоти розчину ферменту додавали 16 мкл 20 мМ фосфатного буферного розчину, рН 7,5. Кожний з вихідних розчинів наносили крапельним методом на відповідний (вимірювальний і референтний) гребінчастий електрод кондуктометричного перетворювача, який потім витримували впродовж 25 хв в атмосфері насичених парів глутаральдегіду за температури 25 °С. Отриманий чип з біоселективною та референтною мембранами висушували на повітрі за кімнатної температури протягом 15 хв, відмивали 10 мМ боратним буферним розчином, рН 8,7, протягом доби за температури 4 °С та використовували у подальших експериментах. Проведено також експеримент із стабілізації біоматриці за допомогою додаткової нафіонової мембрани. У цьому випадку ДЕАЕ-декстран у мембрани не додавали, а після іммобілізації в парах глутарового альдегіду на поверхні формували додаткову нафіонову мембрану [16, 17].

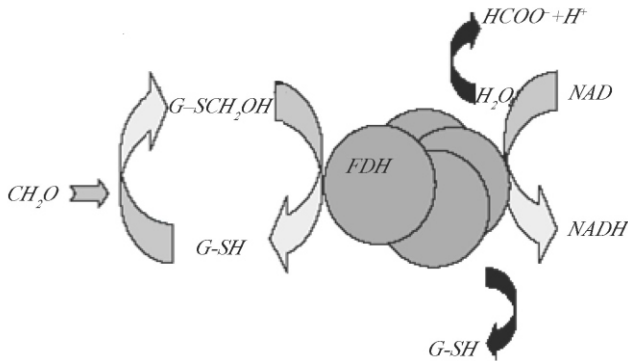


Рис. 1. Схема протікання ферментативної реакції за участі глутатіонзалежної формальдегідегідрогенази

Вимірювання проводили при денному світлі за кімнатної температури (20 °C) у скляній комірці. Сенсорний чип занурювали у вимірювальну комірку, заповнену 2 мл 10 мМ боратного буферного розчину, рН 8,9, який активно перемішували. Після цього виписували базову лінію вихідного сигналу біосенсора і до комірки вносили аналіт – формальдегід. Диференційний вихідний сигнал між вимірювальним і референтним гребінчастими електродами кондуктометричного перетворювача реєстрували за допомогою вимірювальної установки і отримували залежність величини сигналу біосенсора від концентрації субстрату.

**Результати і обговорення.** В основі роботи формальдегід-чутливого біосенсора на основі глутатіон-залежної ФдДГ лежить реакція, у якій із нейтральної молекули формальдегіду утворюється іонна сполука – мурашина кислота, що дисоціює до форміат-аніону і протону. Цей процес зумовлює підвищення електропровідності аналізованого розчину біля поверхні електроду, що й реєструється за допомогою кондуктометричного методу аналізу (рис. 1).

У ході досліджень нами використано принципово нову методику формування біоселективної мембрани на поверхні тонкоплівкових планарних електродів, яка полягає в ко-іммобілізації ФдДГ з її кофакторами –  $NAD^+$  та глутатіоном. Внесення в біочутливий шар ДЕАЕ-декстрану та покриття його додатковою нафіоновою мембраною запобігають

вимиванню низькомолекулярних кофакторів із біоматриці, що дозволяє створити безреагентний біосенсор багаторазового застосовування, який не потребує внесення в аналізований розчин кофакторів ФдДГ. Утримання кофакторів у біоселективному шарі досягається як за рахунок електростатичної взаємодії між позитивно зарядженим ДЕАЕ-декстраном і негативно зарядженими фосфатними групами  $NAD^+$  та карбоксилатними групами глутатіону, так і за рахунок створення іонного бар'єра негативно зарядженими сульфатними групами нафіонової мембрани. Крім того, завдяки високій концентрації  $NAD^+$  у біоселективній мембрані (близько 100 мМ) усувається потреба в додатковій ферментній системі регенерації  $NAD^+$ .

Варто зазначити, що більшість із створених раніше біосенсорних пристроїв на основі формальдегідегідрогеназ базувалися на застосуванні ковалентно зв'язаного  $NAD^+$ , що суттєво знижувало його доступність та ефективність для фермент-субстратних взаємодій.

Для з'ясування оптимальних умов функціонування іммобілізованої в парах глутарового альдегіду ФдДГ вивчали залежність сигналів біосенсора на формальдегід від величини рН та концентрації буферного розчину.

Як відомо, для функціонування нативної ФдДГ *H. polymorpha* оптимальною є величина рН близько

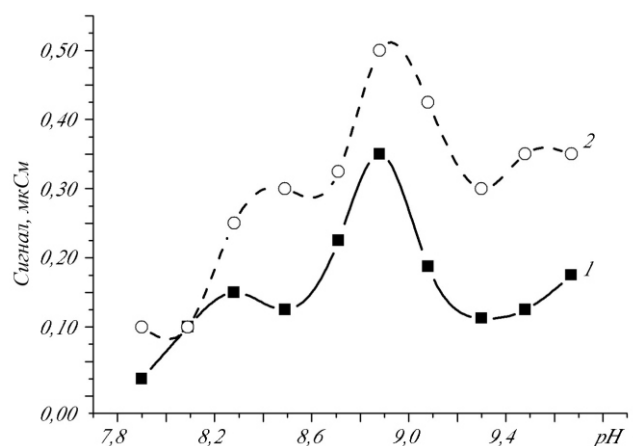


Рис. 2. Залежність сигналу біосенсора на основі ФдДГ від величини рН 10 мМ боратного робочого буфера за присутності 5 (1) та 10 (2) мМ формальдегіду. Біоселективну мембрану для цього дослідження сформовано з додаванням ДЕАЕ-декстрану

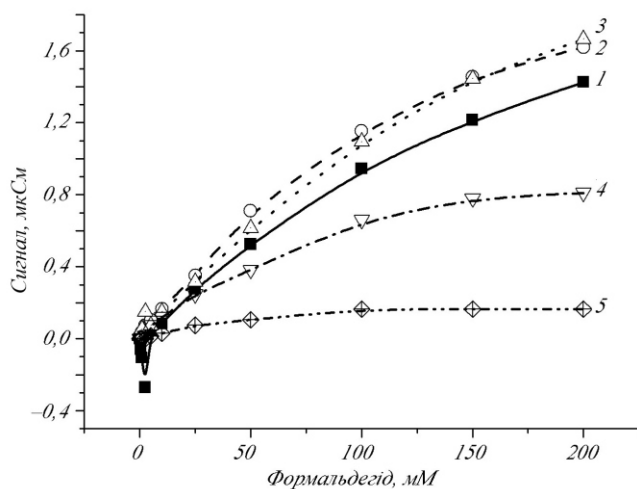


Рис. 3. Залежність величини сигналу біосенсора на основі ФдДГ від концентрації формальдегіду у 5 (1), 10 (2), 15 (3), 25 (4) та 50 (5) мМ боратному буферному розчині, рН 8,9. Біоселективну мембрану для цього дослідження сформовано з додаванням ДЕАЕ-декстрану

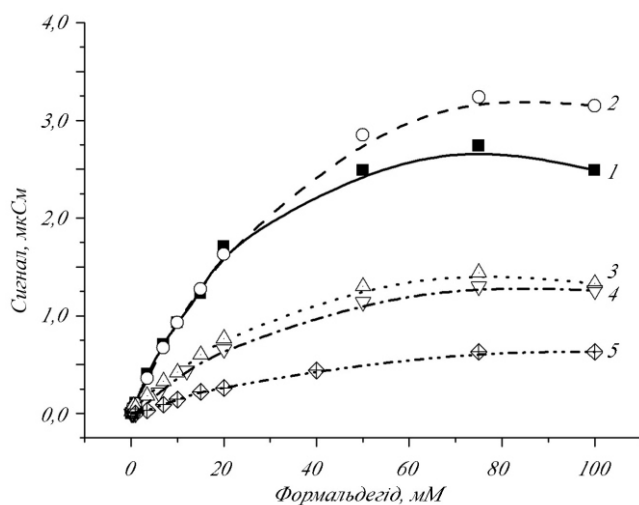


Рис. 4. Залежність величини сигналу біосенсора на основі ФдДГ від концентрації формальдегіду у 5 (1), 10 (2), 15 (3), 25 (4) та 50 (5) мМ боратному буферному розчині, рН 8,9. На поверхні біосенсора сформовано додаткову нафіонову мембрану

8,3 [5]. Досліди з іммобілізованим в парах глутарового альдегіду ферментом показали деякий зсув рН-оптимуму в лужну область, оскільки найвищі відгуки на додавання субстрату реєстрували при рН близько 8,9 (рис. 2). Незначна зміна рН-оптимуму для іммобілізованої на поверхні кондуктометричних перетворювачів ФдДГ може бути зумовлена як невеликою зміною конформації ферменту в процесі взаємодії з молекулами глутарового альдегіду, так і

особливостями взаємодії іонних груп ДЕАЕ-декстрану, альбуміну та кофакторів ФдДГ із компонентами буферної системи.

Кондуктометричний метод досліджень ґрунтується на вимірюванні зміни провідності аналізованого розчину, яка в свою чергу залежить від перебігу ферментативної реакції та характеристик робочого буферного розчину. Зважаючи на ці факти, досліджували залежність величини відгуку біосенсора від концентрації формальдегіду та буферного розчину. Як видно з результатів, представлених на рис. 3, 4, лінійний діапазон визначення концентрації формальдегіду становить 1–100 та 1–50 мМ для біоматриці з ДЕАЕ-декстраном та додатковою нафіоновою мембраною відповідно. Величини сигналів біосенсора, створеного на основі рекомбінантної ФдДГ, у кілька разів нижчі порівняно з величинами сигналів біосенсора, розробленого нами раніше на основі бактерійної ФдДГ [10], що зумовлено у 4 рази меншою активністю іммобілізованої рекомбінантної ФдДГ. Окрім того, концентрація ферменту у біомембрані на порядок нижча за ту, що використовують зазвичай, і становить лише 0,5 %. Необхідно звернути увагу й на те, що висока буферна ємність самої робочої мембрани (100 мМ NAD та 20 мМ глутатіон) також призводить до суттєвого зменшення величини сигналу створеного біосенсора. Сукупність усіх цих факторів спричиняє втрату величини сигналу сенсора на один–два порядки загалом, проте зникає необхідність внесення кофакторів у вимірювальну комірку (суттєво ускладнює процедуру аналізу) та стає можливим багаторазове (до 1000 вимірювань) застосування одного й того ж сенсора без втрати його аналітичних характеристик. Передбачувана нижня межа визначення концентрації для біосенсора склала 1 мМ аналіту, однак у майбутньому її можна зменшити за рахунок збільшення чутливості кондуктометра. Оптимальною для роботи іммобілізованої в парах глутарового альдегіду глутатіон-залежної формальдегіддегідрогенази є концентрація робочого буферного розчину 10 мМ. Такий оптимум стосовно концентрації буферного розчину можна пояснити виходячи з достатньої буферної ємності для роботи ферменту та відносно невисокої фонові провідності середовища вимірювання. Отже, оптимальними



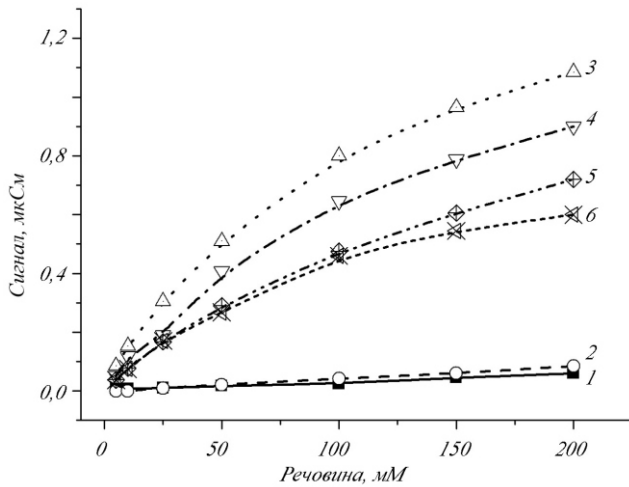


Рис. 5. Залежність величини сигналу кондуктометричного біосенсора на основі формальдегіддегідрогенази *H. polymorpha* від концентрації метанолу (1), етанолу (2), формальдегіду (3), формальдегіду за наявності (4) та відсутності (7) ферменту в мембрані біосенсора, еквімолярних сумішей формальдегіду та метанолу (4), формальдегіду та етанолу (5), формальдегіду, метанолу та етанолу (6) у середовищі вимірювання. Біоселективну мембрану для цього дослідження сформовано з додаванням ДЕАЕ-декстрану

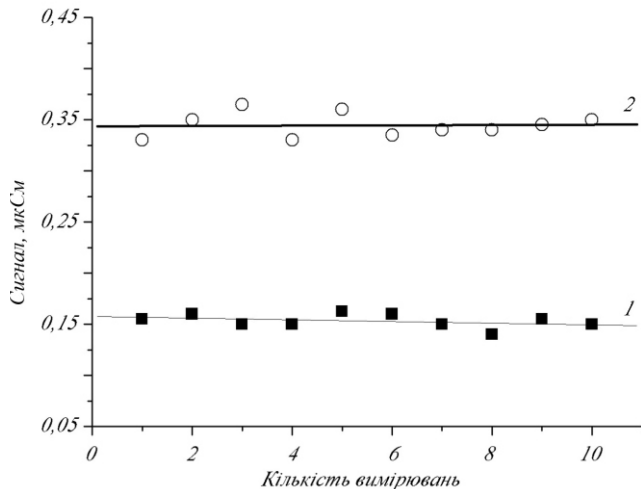


Рис. 6. Відтворюваність сигналу біосенсора на 10 мМ (1) і 25 мМ (2) формальдегід. Вимірювання проводились в 10 мМ боратному буферному розчині, рН 8,9. Біоселективну мембрану для цього дослідження сформовано з додаванням ДЕАЕ-декстрану

умовами роботи кондуктометричного біосенсора на основі іммобілізованої в парах глутарового альдегіду ФдДГ *H. polymorpha* є 10 мМ буферний розчин з рН 8,9.

Як і очікувалося, створений сенсор є високоселективним щодо свого основного субстрату – формальдегіду (рис. 5). Інші речовини, зокрема, мета-

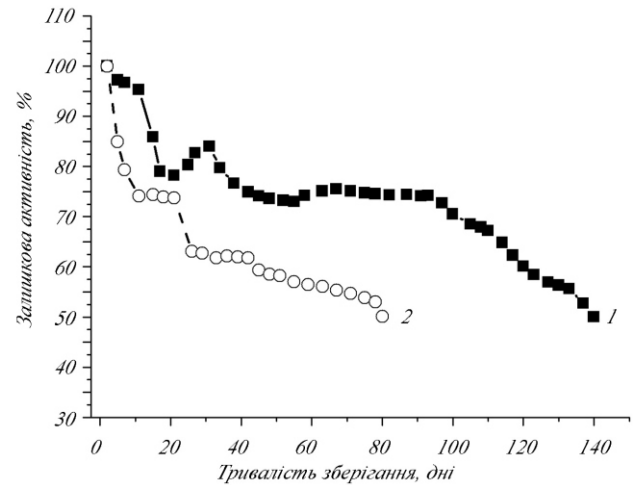


Рис. 7. Стабільність відгуку біосенсора при зберіганні у 10 мМ боратному буферному розчині, рН 8,9 (1) та в сухому вигляді (2) за температури 4 °С. Біоселективну мембрану для цього дослідження сформовано з додаванням ДЕАЕ-декстрану

нол та етанол спричиняють несуттєву зміну сигналу кондуктометричного сенсора. В ході проведення експерименту за умов відсутності ферменту в обох мембранах біосенсора відгуків на внесення формальдегіду в середовище вимірювання не реєстрували. Однак помічено, що за наявності в пробах метанолу та етанолу величина відгуку на може зменшуватися. Це можна пояснити їхньою здатністю впливати на дисоціацію мурашиної кислоти внаслідок зміни спиртами діелектричної сталої розчину.

Однією з найважливіших характеристик будь-якого біосенсора є його операційна стабільність та стабільність при зберіганні. Щоб дослідити першу, протягом одного робочого дня з інтервалом в 1 год вимірювали відгуки на дві концентрації формальдегіду – 10 та 25 мМ. З даних рис. 6 видно, що створений кондуктометричний біосенсор давав відтворювані сигнали на кожну з досліджених концентрацій формальдегіду, а стандартне відхилення величин відгуків сенсора не перевищувало 4 %. Щодо стабільності при зберіганні (рис. 7), то найкращі результати отримано у випадку, коли біосенсор зберігали у 10 мМ боратному буферному розчині, рН 8,9, за температури 4 °С. Відгук біосенсора залишався стабільним щонайменше протягом 100 днів.

**Висновки.** Розроблено кондуктометричний біосенсор, чутливий до формальдегіду, на основі  $\text{NAD}^+$ - і глутатіон-залежної формальдегіддегідро-

генази, виділеної з клітин рекомбінантного штаму Tf 11-6 термотолерантних дріжджів *H. polymorpha*. Як трансдуктори використано золоті гребінчасті планарні електроди. Запропоновано новий підхід до створення біоелемента сенсора, який включає іммобілізацію у біоселективному шарі низькомолекулярних кофакторів ( $NAD^+$  і глутатіону) та дозволяє здійснювати багаторазовий аналіз без їхнього внесення в зразок. Досліджено залежність величини сигналу біосенсора від концентрації аналіту, значення рН і концентрації буфера.

Вивчено операційну стабільність, стабільність при зберіганні та селективність створеного біосенсора. Для подальшої комерціалізації розробленого кондуктометричного біосенсора в майбутньому планується проведення серії експериментів з дослідження особливостей його роботи у реальних зразках, зокрема, для оцінки умов зберігання та безпеки споживання деяких видів свіжозамороженої риби, а також аналізу якості очищення стічних вод. Окрім того, буде вивчено специфічність (залежність величини відгуку сенсора на формальдегід за присутності інших речовин) отриманого біосенсора. У порівнянні з розробленим раніше кондуктометричним біосенсором на основі комерційного препарату формальдегіддегідрогенази із *Pseudomonas putida* [10] біосенсор, створений з використанням глутатіон-залежної ФдДГ з клітин рекомбінантного штаму Tf 11-6 термотолерантних дріжджів *H. polymorpha*, відзначається підвищеною стабільністю при зберіганні. Це можна пояснити вищою питомою активністю та більшою толерантністю до впливу температури виділеного нами рекомбінантного ферменту [12].

Автори висловлюють щирю подяку НАТО (Грант № СВР.NUKR.CLG 982955) та НАН України (Договір № 6/2-2008) за фінансову підтримку роботи.

*O. F. Sosovskaya, G. N. Pavlishko, S. Ya. Paryzhak, M. V. Gonchar, Ya. I. Korpan*

Formaldehyde conductometric biosensor based on the recombinant formaldehyde dehydrogenase from *Hansenula polymorpha* yeast  
Summary

*Gold interdigitated planar electrodes and  $NAD^+$ - and glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase, isolated from the recombinant strain Tf 11-6 of the thermotolerant yeast H.*

*polymorpha, were used for development of formaldehyde-sensitive conductometric biosensor. Novel approach to the preparation of sensor bioelement, including immobilisation of low-molecular cofactors ( $NAD^+$  and glutathione) in bioselective layer as well as allowing multiple assays without addition of the cofactors to the analyzed sample, was proposed. Dependence of biosensor response on analyte concentration, pH value, and buffer concentration was investigated using model samples. Selectivity, operational and storage stabilities of the developed sensor were studied. A linear detection range for formaldehyde was shown to be 1–100 mM.*

*Keywords: conductometric biosensor, Hansenula polymorpha,  $NAD^+$ - and glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase, formaldehyde.*

*O. Ф. Сосовская, Г. Н. Павлишко, С. Я. Парижак, М. В. Гончар, Я. И. Корпан*

Формальдегидный кондуктометрический биосенсор на основе рекомбинантной формальдегиддегидрогеназы дрожжей *Hansenula polymorpha*

Резюме

*Для разработки кондуктометрического биосенсора, чувствительного к формальдегиду, использованы золотые гребенчатые планарные электроды,  $NAD^+$ - и глутатион-зависимую формальдегиддегидрогеназу, полученную из клеток рекомбинантного штамма Tf 11-6 термотолерантных дрожжей *H. polymorpha*, способных сверхпродуцировать этот фермент. Предложен новый подход к созданию биоэлемента сенсора, подразумевающий иммобилизацию низкомолекулярных кофакторов ( $NAD^+$  и глутатиона) в биоселективной матрице, что делает возможным проведение многократного анализа без их внесения в исследуемый образец. Кроме того, исчезает необходимость регенерации  $NAD^+$  за счет его высокой локальной концентрации в мембране. Изучена зависимость величины сигнала биосенсора от концентрации измеряемого вещества, величины рН и концентрации буфера. Исследована также операционная стабильность, стабильность при хранении и селективность созданного биосенсора. Линейный диапазон измерения концентрации формальдегида составляет 1–100 мМ.*

*Ключевые слова: кондуктометрический биосенсор, Hansenula polymorpha,  $NAD^+$ - и глутатион-зависимая формальдегиддегидрогеназа, формальдегид.*

## ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Nikitina O., Shleev S., Gayda G., Demkiv O., Gonchar M., Gorton L., Csoregi E., Nistor M. Bi-enzyme biosensor based on  $NAD^+$ - and glutathione-dependent recombinant formaldehyde dehydrogenase and diaphorase for formaldehyde assay // *Sensors and Actuators.*—2007.—**125.**—P. 1–9.
2. Kawamura K., Kerman K., Fujihara M., Nagatani N., Hashiba T., Tamiya E. Development of a novel hand-held formaldehyde gas sensor for the rapid detection of sick building syndrome // *Sensors and Actuators.*—2005.—**105.**—P. 495–501.
3. Ngamchana S., Surareungchai W. Sub-millimolar determination of formalin by pulsed amperometric detection // *Analyt. Chim. Acta.*—2004.—**510.**—P. 195–201.

4. Herschkovitz Y., Eshkenazi I., Campbell C. E., Rishpon J. An electrochemical biosensor for formaldehyde // *J. Electroanal. Chem.*–2000.–**491**.–P. 182–187.
5. Сибірний В. А., Гончар М. В., Рябова О. Б., Майдан М. М. Современные методы анализа формальдегида, метанола и этанола // *Мікробіол. журн.*–2005.–**67**, № 4.–P. 85–110.
6. Khlupova M., Kuznetsov B., Demkiv O., Gonchar M., Csoregi E., Shleev S. Intact and permeabilized cells of the yeast *Hansenula polymorpha* as bioselective elements for amperometric assay of formaldehyde // *Talanta*.–2007.–**71**.–P. 934–940.
7. Katakya R., Bryce M. R., Goldenberg L., Hayes S., Nowak A. A biosensor for monitoring formaldehyde using a new lipophilic tetrathiafulvalene-tetracyanoquinodimethane salt and a polyurethane membrane // *Talanta*.–2002.–**56**.–P. 451–458.
8. Korpan Y. I., Gonchar M. V., Sibirny A. A., Martelet C., El'skaya A. V., Gibson T. D., Soldatkin A. P. Development of highly selective and stable potentiometric sensors for formaldehyde determination // *Biosensors and Bioelectronics*.–2000.–**15**.–P. 77–83.
9. Dzyadevych S. V., Arkhypova V. N., Korpan Y. I., El'skaya A. V., Soldatkin A. P., Jaffrezic-Renault N., Martelet C. Conductometric formaldehyde sensitive biosensor with specifically adapted analytical characteristics // *Analyt. Chim. Acta*.–2001.–**445**.–P. 47–55.
10. Солдаткін О. О., Сосовська О. Ф., Бенілова І. В., Гончар М. В., Корпан Я. І. Новий кондуктометричний біосенсор для визначення концентрації формальдегіду у модельних зразках // *Біополімери і клітина*.–2005.–**21**, № 5.–P. 425–432.
11. Bunde R. L., Jarvi E. J., Rosentreter J. J. A piezoelectric method for monitoring formaldehyde induced crosslink formation between poly-lysine and poly-deoxyguanosine // *Talanta*.–2000.–**51**.–P. 159–171.
12. Demkiv O. M., Paryzhak S. Ya., Gayda G. Z., Sibirny V. A., Gonchar M. V. Formaldehyde dehydrogenase from recombinant yeast *Hansenula polymorpha*: isolation and bioanalytical application // *FEMS Yeast Res.*–2007.–**7**.–P. 1153–1159.
13. Демків О. М., Парижак С. Я., Красовська О. С., Стасик О. В., Гайда Г. З., Сибірний А. А., Гончар М. В. Конструювання штамів – надпродуцентів формальдегіддегідрогенази метилотрофних дріжджів *Hansenula polymorpha* // *Біополімери і клітина*.–2005.–**21**, № 6.–P. 525–530.
14. Shul'ga A. A., Soldatkin A. P., El'skaya A. V., Dzyadevich S. V., Patskovsky S. V., Strikha V. I. Thin-film conductometric biosensors for glucose and urea determination // *Biosensors and Bioelectronics*.–1994.–**9**.–P. 217–223.
15. Arkhypova V. M., Bereghetskyy A. L., Shul'ga O. A., Chovelon J.-M., Soldatkin A. P., Dzyadevych S. V. Investigation and optimization of conductometric transducers based on planar technology // *Sensor Electron. Microsystem Technol.*–2005.–**2**.–P. 48–54.
16. Ben Ali M., Korpan Y., Gonchar M., El'skaya A., Maaref M. A., Jaffrezic-Renault N., Martelet C. Formaldehyde assay by capacitance versus voltage and impedance measurements using bi-layer bio-recognition membrane // *Biosensors and Bioelectronics*.–2006.–**22**.–P. 575–581.
17. Ben Ali M., Gonchar M., Gayda G., Paryzhak S., Maaref M. A., Jaffrezic-Renault N., Korpan Ya. Formaldehyde-sensitive sensor based on recombinant formaldehyde dehydrogenase using capacitance versus voltage measurements // *Biosensors and Bioelectronics*.–2007.–**22**.–P. 2790–2795.

УДК 577.150.87+543.8:547.262

Надійшла до редакції 20.11.07